

LASER SCANNING MICROSCOPE

TANAAMI 10/769,017

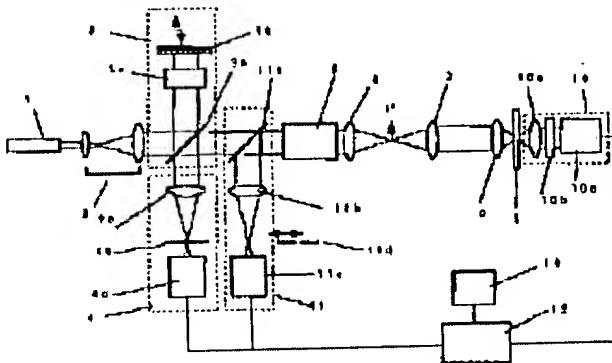
Patent number: JP11119106
Publication date: 1999-04-30
Inventor: KASHIMA SHINGO
Applicant: OLYMPUS OPTICAL CO LTD
Classification:
 - **international:** G02B21/00; G01N21/64; G02B5/00; G02B5/18;
 G02B21/06
 - **European:**
Application number: JP19970283210 19971016
Priority number(s):

[Report a data error here](#)

Abstract of JP11119106

PROBLEM TO BE SOLVED: To simultaneously perform fluorescent observation and the observation of the entire image of a sample in accordance with the sample and a purpose by detecting an interference signal generated by a laser beam reflected by a movable reflecting optical device and made incident on an optical path dividing element again, and a laser beam reflected by the sample and made incident on the optical path dividing element again.

SOLUTION: The reflected light reflected inside the sample, and transmitted light transmitted through the sample 9, besides fluorescence are generated from the sample 9 irradiated with the laser beam. On the other hand, the part of the reflected light and the fluorescence are made incident on an objective lens 8 again, and reach a dichroic mirror 11a. The reflected light transmitted through the mirror 11a is made incident on an interference optical system 3, reflected by a beam splitter 3a, and synthesized coaxially with a reference beam reflected by a movable mirror 3b. At this time, the mirror 3b moves in an optical axis direction so as to align the length of the optical path of the reference beam with that of the reflected light, so that interference occurs between the synthesized reference beam and the reflected light, and the generated interference light is detected by an interference signal detecting optical system 4.



BEST AVAILABLE COPY

特開平11-119106

(43)公開日 平成11年(1999)4月30日

(51) Int. Cl. ⁶
 G02B 21/00
 G01N 21/64
 G02B 5/00
 5/18
 21/06

識別記号

F I
 G02B 21/00
 G01N 21/64
 G02B 5/00
 5/18
 21/06

E
A

審査請求 未請求 請求項の数16 O L (全12頁)

(21)出願番号 特願平9-283210

(22)出願日 平成9年(1997)10月16日

(71)出願人 000000376

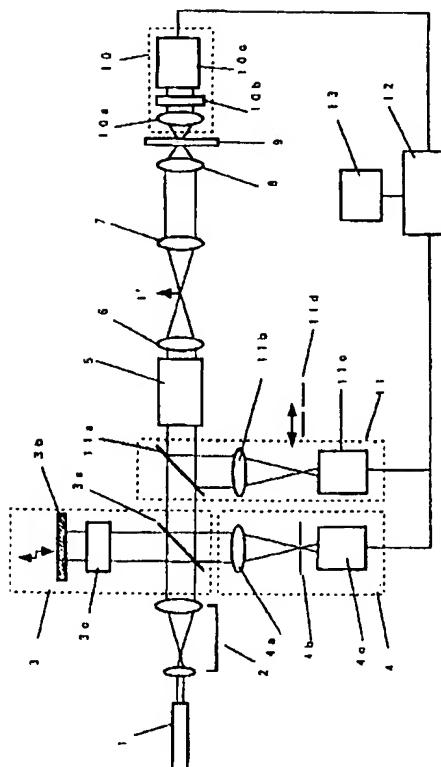
オリソパス光学工業株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号(72)発明者 鹿島 伸悟
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ
ンパス光学工業株式会社内

(54)【発明の名称】レーザ走査型顕微鏡

(57)【要約】

【課題】 レーザ走査型顕微鏡において、標本の蛍光観察に加え、標本の位置出しや標本の輪郭等の観察が行うことができるすることを目的とする。

【解決手段】 発明によるレーザ走査型顕微鏡は、パルスレーザを射出したレーザビームを対物レンズによって標本上に集光させ、そこで多光子励起による蛍光や化学反応を起こさせるレーザ走査型顕微鏡において、パルス幅の調整範囲の広いプレチャーブコンペンセーション光学系と低コヒーレンス干渉装置を備えた。



【特許請求の範囲】

【請求項1】近赤外域の波長のパルスレーザ光源と、該パルスレーザ光源からのレーザ光を所望の大きさにコリメートするコリメート光学系と、コリメートされたレーザ光を標本面上に集光する対物レンズ系と、前記集光されたレーザ光と標本を相対的に2次元走査する走査手段と、前記標本から発生する蛍光を検出する蛍光検出光学系を備えたレーザ走査型顕微鏡において、前記パルスレーザ光源と前記走査手段の間の光路に配置され、前記パルスレーザ光源からのレーザ光の一部を反射し残りのレーザ光を透過するように分割する光路分割素子と、該光路分割素子によって分割された一方のレーザ光を再び該光路分割素子に向かって反射させる光軸方向に移動可能な可動反射光学素子と、前記可動反射光学素子で反射され前記光路分割素子に再び入射したレーザ光と前記光路分割素子によって分割された残りのレーザ光であって標本で反射され前記光路分割素子に再び入射したレーザ光とによって生じた干渉信号を検出する干渉信号検出光学系とを有する干渉光学装置を備えたことを特徴とするレーザ走査型顕微鏡。

【請求項2】前記パルスレーザ光源の前記標本上でのパルス幅を調整するパルス幅調整光学系を前記パルスレーザ光源より前記標本側に具備していることを特徴とする請求項1に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項3】前記パルス幅調整光学系はプリズムペア或いはグレーティングペア若しくはそれらの混合からなり、該プリズムペア或いはグレーティングペアの間隔及び光軸に対する相対位置を変化させ得ることを特徴とする請求項2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項4】前記干渉光学系が共焦点光学系となっていることを特徴とする請求項1乃至2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項5】前記光路分割素子と前記可動反射光学素子との間に光量調整機構を有していることを特徴とする請求項1乃至2のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項6】前記光量調整機構が透過光量可変のNDフィルタであることを特徴とする請求項5に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項7】前記光量調整機構が2枚の直線偏光素子からなり、そのうちの1枚が回転可能になっていることを特徴とする請求項5に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項8】前記光量調整機構が2枚の直線偏光素子と、該2枚の直線偏光素子で挟まれた液晶素子からなることを特徴とする請求項5に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項9】前記パルスレーザ光源の発振波長の半値全幅 $\Delta\lambda$ (nm)が可変であり、その可変範囲が以下の条件

(1)を満足することを特徴とする請求項1乃至2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

(1) $3 \leq \Delta\lambda \leq 100$

【請求項10】前記光路分割素子と前記可動反射光学素子の間に、前記光路分割素子からのレーザ光を集光する少なくとも1枚のダブレットを含むファイバカップリング光学系と、集光されたレーザ光を伝送するシングルモードファイバと、該シングルモードファイバから射出したレーザ光をコリメートする少なくとも1枚のダブレットを含むコリメート光学系を配置したことを特徴とする請求項1乃至2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項11】前記ファイバカップリング光学系から前記コリメート光学系までの光路長をOP(r)、前記光路分割素子から標本面までの光路長をOP(o)とした場合、以下の条件(2)を満足することを特徴とする請求項10に記載のレーザ走査型顕微鏡。

$$(2) 0.65 \leq OP(r) / OP(o) \leq 0.95$$

【請求項12】前記対物レンズの像位置と前記対物レンズの間に配置された第1のノマルスキーブリズムと、前記標本を挟んで前記対物レンズの反対側に配置されたコンデンサレンズと、蛍光カットフィルタと、第2のノマルスキーブリズム及び検光子とを有する微分干渉信号を検出する光学系を具備していることを特徴とする請求項1乃至2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項13】前記第1のノマルスキーブリズムが、光路から挿脱可能であることを特徴とする請求項12に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項14】前記第1のノマルスキーブリズムと対物レンズによる標本面上でのシェア量 δ が以下の条件

(3)を満足することを特徴とする請求項12に記載のレーザ走査型顕微鏡。

$$(3) 0.15 \times \lambda / NA \leq \delta \leq 0.46 \times \lambda / NA$$

ここで、 λ は前記パルスレーザ光源のレーザ光の波長、NAは前記対物レンズの開口数である。

【請求項15】前記蛍光検出光学系にレーザ光をカットするフィルタが具備され、前記干渉信号検出光学系に蛍光をカットするフィルタが具備されていることを特徴とする請求項1乃至2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【請求項16】前記走査光学系が光束偏向手段と瞳投影レンズから構成されており、該瞳投影レンズからの射出ビームがほぼテレセントリックになっていることを特徴とする請求項1乃至2に記載のレーザ走査型顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、近赤外パルスレーザを標本面上に集光しスキャンさせ、そこで通常の1光子吸収も含む多光子吸収により励起されて発生する蛍光を検出することにより像を得るいわゆる多光子励起レーザ走査型顕微鏡に関するものであり、標本の位置出しや標本の輪郭等の観察を行う場合に、反射或いは透過の干渉像観察を同時、若しくは切り替えて行うことのできるレーザ走査型顕微鏡に関するものである。

【0002】

【従来の技術】顕微鏡などの光学装置を用いた標本の観察方法の一つに、多光子励起法を利用する方法がある。この多光子励起法は、通常1光子（単光子）で行われている励起を多光子で行う方法で、例えば2光子励起法では、400nm（単光子）の波長で行っていた蛍光励起を倍の波長の800nmで行うものである。この時、800nmの波長での1光子のエネルギーは400nmに比べて半分になるため、800nmの波長では2光子を用いて蛍光励起が行なわれる。

【0003】多光子励起に用いられる光源としては、例えばサブピコ秒のパルスレーザがある。これは多光子励起がその単位体積・単位時間当たりの光子密度の自乗にほぼ比例した確率で起こるため、サブピコ秒のパルスレーザではパルス幅が非常に狭いため複数の光子が存在する確率が高くなることによる。このように、多光子励起では標本のごく一部でしか蛍光が発生しないため、厚い標本であってもいわゆる断層像のような非常に焦点深度の浅い画像を得ることができるという特徴がある。

【0004】ただし、パルスレーザ光源から出たレーザ光はある波長幅を持っているため、レーザ光のパルス幅は光学素子を通過するたびに拡がってしまう。そのため、標本にレーザ光が達するまでの間に多くの光学素子が存在するような場合では、標本位置でパルス幅が大きく拡がってしまい多光子励起が起きなくなるという問題が生じる。この問題を解決する方法として、パルス状のレーザビームをプリズムペアを用いて「短い波長の光を先に出す」言い換えれば「長い波長の光を遅らせる」という手法（プレチャーブコンペンセーション）が一般的に知られている。この手法に関しては文献1：“Femtosecond pulse width control in microscopy by two-photon absorption autocorrelation / by G. J. Brakenhoff, M. Muller & J. Squier / J. of Microscopy, Vol. 179, Pt. 3, September 1995, pp. 253-260”：に詳しいが、ここで簡単に説明しておく。

【0005】図8はプレチャーブコンペンセーションを行うための光学系を示したものである。ここで、4つのプリズムのうち、第1のプリズム31は固定されており、第2のプリズム32、第3のプリズム33および第4のプリズム34は移動可能になっている。

【0006】第2のプリズム32は保持台35上に配置されており、保持台35には移動のための駆動装置36が備えられ、駆動部36aが保持台35に連結されている。保持台35は矢印Aで示されるように第1のプリズム31と第2のプリズム32を結ぶ光軸（図示せず）に沿った方向と、矢印Bで示されるように矢印Aと略直交する方向に移動できるような移動機構を有している。移動機構は圧電素子等の従来使用されている微動機構を用いればよい。なお、第3のプリズム33や第4のプリズム34の移動機構についても、第2のプリズム32と同様に構成されているものとし、ここでは図示していな

い。また、調整方向は図8に示された方向に限られるものではない。

【0007】図示されないパルスレーザから出射したレーザビームは、第1のプリズム31に入射する。前述のようにレーザビームはある波長の幅を持っているため、レーザビームはプリズム31の入射面31aで波長毎に分解され、第1のプリズム31の中を拡がって進む。入射面31aでは光の波長が短くなるほど強く屈折されるため、第1のプリズム31の中を通過するレーザビームは、図8に示すように実線（長波長側）と破線（短波長側）で示された範囲で拡がる。

【0008】次に、第1のプリズム31を出射したレーザビームは第2のプリズム32に入射する。第2のプリズム32に入射したレーザビームは、プリズム内部において長波長側と短波長側とで異なる距離を進み、出射面32aより出射する。出射面32aから出射したレーザビームは平行な光束に戻る。この時、第1のプリズム31と第2のプリズム32の間隔や、第2のプリズム32自身の光軸に対する相対位置を変えることにより、波長の短い光ほど光路長を短く、波長の長い光ほど光路長を長くすることができる。つまり、このような光学系を用いれば「短い波長の光を先に出し、長い波長の光を遅らせる」という、プレチャーブコンペンセーションが実現できるわけである。

【0009】そして、第2のプリズム32を出射したレーザビームは第3のプリズム33及び第4のプリズム34を通過するが、この時、第2のプリズム32の移動に伴って光軸が移動しているため、このままでは第1のプリズム31に入射したレーザビームの光軸の延長線と第4のプリズム34を出射するレーザビームの光軸が一致しなくなる。そこで、第3のプリズム33と第4のプリズム34は、第1のプリズム31と移動後の第2のプリズム32との配置位置に関して左右対称になるように各々が移動する。この結果、プレチャーブコンペンセーションのためにプリズムが移動しても、第4のプリズム34を出射するレーザビームの光軸は一定の状態に保たれることになる。このような構成によって、従来のプレチャーブコンペンセーションでは約10nm以下の波長幅を持つパルスレーザ光源のパルス幅を調整することができるようになっている。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、多光子励起による蛍光観察を含め一般的な蛍光観察では、蛍光は標本の特定の部分においてのみしか生じないことが多いため、標本全体の様子を捉えることが難しいという問題がある。特に多光子励起では蛍光の発生する領域が極端に狭くなるため、標本全体の把握がさらに困難になる。

【0011】また、従来のプレチャーブコンペンセーション光学系では、パルス幅の調整できる範囲が狭いた

め、新たな光学系若しくは光学素子を光路に追加した場合、これらの光学系の追加によるパルス幅の拡がりを抑えるような調整ができないという問題があった。

【0012】本発明は上記問題点に鑑みてなされたものであり、1光子励起および多光子励起による蛍光観察が行えるレーザ走査型蛍光顕微鏡において、標本や目的に応じて蛍光観察や標本の全体像の観察が同時に行えるレーザ走査型顕微鏡を提供することを目的とするものである。

【0013】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するためには、本発明のレーザ走査型顕微鏡は、近赤外域の波長のパルスレーザ光源と、該パルスレーザ光源からのレーザ光を所望の大きさにコリメートするコリメート光学系と、コリメートされたレーザ光を標本面上に集光する対物レンズ系と、前記集光されたレーザ光と標本を相対的に2次元走査する走査手段と、前記標本から発生する蛍光を検出する蛍光検出光学系を備えたレーザ走査型顕微鏡において、前記パルスレーザ光源と前記走査手段の間の光路に配置され、前記パルスレーザ光源からのレーザ光の一部を反射し残りのレーザ光を透過するように分割する光路分割素子と、該光路分割素子によって分割された一方のレーザ光を再び該光路分割素子に向かって反射させる光軸方向に移動可能な可動反射光学素子と、前記可動反射光学素子で反射され前記光路分割素子に再び入射したレーザ光と前記光路分割素子によって分割された残りのレーザ光であって標本で反射され前記光路分割素子に再び入射したレーザ光とによって生じた干渉信号を検出する干渉信号検出光学系とを有する干渉光学装置を備えたことを特徴としている。

【0014】このような構成により、レーザ走査型顕微鏡による1光子も含む多光子励起による蛍光観察に加えて、干渉光学装置による低コヒーレンス干渉観察で標本全体の様子を観察することができ、例えば組織細胞内部の細胞の輪郭を低コヒーレンス干渉観察しながら、その中で蛍光色素を付けられた特定の構造(染色体等)の蛍光観察や特定のイオンからの信号検出等が可能になる。

【0015】また、本発明の他のレーザ走査型顕微鏡は、前記パルスレーザ光源の前記標本上でのパルス幅を調整するパルス幅調整光学系を具備していることを特徴としている。低コヒーレンス干渉観察を高分解能で行う為には、レーザの波長幅が大きくコヒーレンス長が短い方が良いが、波長幅を大きくすると光学系通過に伴うパルス幅の拡がりが非常に大きく、標本面での単位時間当たりの光子数が少くなり多光子励起が起こらなくなってしまう。そのため、本発明のようにパルス幅調整光学系を具備することで光学系通過に伴うパルス幅の拡がりが相殺できるため、標本面でのパルス幅が小さくなり、多光子励起が十分起こり得る光子密度を保つことができる。

【0016】また、本発明の他のレーザ走査型顕微鏡は、前記パルスレーザ光源の発振波長の半値全幅 $\Delta\lambda$ (nm)が可変であり、その可変範囲が以下の条件(1)を満足することを特徴としている。この範囲に発振波長の半値全幅を保つことにより、パルス幅調整光学系を有しない場合に於いても観察に支障のない分解能を持つ低コヒーレンス干渉観察と多光子励起蛍光観察が可能になる。

$$(1) 3 \leq \Delta\lambda \leq 100$$

また、本発明の他のレーザ走査型顕微鏡は、前記光路分

10 割素子と前記可動反射光学素子の間に、前記光路分割素子からのレーザ光を集光する少なくとも1枚のダブレットを含むファイバカップリング光学系と、集光されたレーザ光を伝送するシングルモードファイバと、該シングルモードファイバから射出したレーザ光をコリメートする少なくとも1枚のダブレットを含むコリメート光学系を配置したことを特徴としている。

【0017】そのため、光路分割素子と可動反射光学素子の間の光路を長くしても、上記のような構成であればシングルモードファイバをリング状に束ねることができ

20 るため、光路分割素子と可動反射光学素子の間の距離を短くすることができ、干渉光学装置をコンパクトにすることができる。また、光路分割素子と可動反射光学素子の間に光路折り曲げミラーを配置し、光路を数回曲げて干渉光学装置をコンパクトにするような方法に比べると、高精度な面精度や傾き調整精度を必要とする光路折り曲げミラーが不要になる。更に、ファイバカップリング光学系及びコリメート光学系にはダブレットレンズを用いて球面収差と色収差を良好に補正しているため、参照光の波面をシングルモードファイバを使用しない場合30 とおおよそ同じ波面にすることができる。

【0018】

【発明の実施の形態】本発明に係る実施の形態を図1に示す。第1図は蛍光観察と低コヒーレンス干渉観察が可能な光学装置で、蛍光観察および干渉観察用の光源であるパルスレーザ光源1、パルスレーザ光源1から出射したレーザ光束を所望の大きさに拡大するコリメート光学系2、標本9の干渉像を生成する干渉光学系3を構成している光路分割素子であるビームスプリッタ3aと可動反射光学素子である可動ミラー3b及び光量調整機構3c、干渉信号を検出する干渉信号検出光学系4を構成している集光レンズ4aとピンホール4b及び光検出器4c、標本9上でレーザ光を走査する走査手段である走査光学系5、走査光学系5からのレーザ光束を対物レンズ8へ導く瞳投影レンズ6、結像レンズ7、レーザ光束を標本9上に集光する対物レンズ8、標本9を透過した透過光や、蛍光を透過検出する透過光検出光学系10を構成しているコンデンサレンズ10aと蛍光カットフィルタ10b及び光検出器10c、標本9で発生した蛍光を検出する蛍光検出光学系11を構成しているダイクロイックミラー11aと集光レンズ11bと光検出器11c

及びピンホール 11 d、各検出光学系の出力から夫々の画像を生成する画像処理装置 12、画像を表示する画像表示装置 13 で構成されている。

【0019】この光学装置の全体構成は以上のようになっているが、機能別に分けると干渉光学系 3 および干渉信号を検出する干渉信号検出光学系 4 が低コヒーレンス干渉装置の主要部分を構成し、走査光学系 5、蛍光検出光学系 11、及び透過光検出光学系 10 がレーザ走査型顕微鏡の主要部分を構成している。なお、パルスレーザ光源 1 や瞳投影レンズ 6、結像レンズ 7、対物レンズ 8 は、低コヒーレンス干渉装置とレーザ走査型顕微鏡の両方の装置に共通して用いられる。

【0020】パルスレーザ光源 1 は単光子励起もしくは多光子励起用に用いられるレーザ光源であるが、多光子励起の場合はサブピコ秒のパルスレーザが特に適している。そして、波長域としては近赤外域が適している。また、レーザ光束の偏光状態は直線偏光が望ましいが、ランダム偏光であっても、偏光素子と組み合わせて直線偏光を得るようにも良い。

【0021】さらに、パルスレーザ光源 1 は、発振波長の半値全幅 $\Delta \lambda$ (nm) が可変であり、その可変範囲が以下の条件 (1) を満足することが望ましい。発振波長の半値全幅がこの範囲であれば、観察に支障のない分解能を持つ低コヒーレンス干渉観察と多光子励起蛍光観察ができる。

$$(1) 3 \leq \Delta \lambda \leq 100$$

ここで、下限の 3 nm を下回る時は、レーザのコヒーレンス長が長くなりすぎて、低コヒーレンス干渉観察の分解能が悪くなってしまう。逆に上限の 100 nm を上回る時は、多光子励起を発生させるためにパルスレーザ光源 1 の光強度を非常に大きくしなければならず、標本にダメージを与えてしまう。

【0022】更に、プレチャーブコンペンセーション光学系を有する場合で、高分解能の低コヒーレンス干渉観察を重視する場合は、以下の条件 (1') を満たすことが望ましい。

$$(1') 15 \leq \Delta \lambda \leq 100$$

ここで、下限の 15 nm を下回る時は、レーザのコヒーレンス長が長く、十分な高分解能の低コヒーレンス干渉観察ができなくなる。逆に上限の 100 nm を上回る時は、プレチャーブコンペンセーション光学系でも十分には補正しきれないため、やはり多光子励起を発生させるためにパルスレーザ光源 1 の光強度を非常に大きくしなければならず、標本にダメージを与えてしまう。

【0023】近赤外域の波長のサブピコ秒の単色コヒーレント光パルスを発するパルスレーザ光源 1 から出射した光束は、2 つのレンズでアフォーカル光学系を構成するコリメート光学系 2 で所望の大きさにコリメートされ、干渉光学系 3 に入射する。なお、半導体レーザの様にレーザ光源から出射するレーザ光束が 1 点から発散す

るような発散ビームである場合は、コリメート光学系 2 はその発散ビームを所望の大きさにコリメートするだけの単レンズ若しくは複数のレンズを組み合わせたいわゆるコリメータでも良い。

【0024】干渉光学系 3 は、光路分割素子であるビームスプリッタ 3 a、可動反射光学素子である可動ミラー 3 b 及び光量調整機構 3 c を備えている。干渉光学系 3 に入射したレーザ光束はビームスプリッタ 3 a によって分割され、入射したレーザ光束の一部が透過され、残りの光束は反射される。

【0025】ビームスプリッタ 3 a で反射されたレーザ光束すなわち参照光は、進行方向前方に配置された光量調整機構 3 c に入射して光量調整が行われる。光量調整機構 3 c を通過した参照光は、可動ミラー 3 b に入射する。可動ミラー 3 b はミラー一面が光軸に対して垂直に配置されているため、可動ミラー 3 b に入射した参照光は入射した方向と逆向きに反射される。なお、可動ミラー 3 b は後述する標本から反射した反射光と参照光の合成によって生じる干渉縞がコントラスト良く生じるよう

に、図示しない移動機構によってその位置が光軸方向に移動する。可動ミラー 3 b で反射した参照光は、ビームスプリッタ 3 a を透過し干渉信号検出光学系 4 に入射する。

【0026】一方、ビームスプリッタ 3 a を透過したレーザ光束はダイクロイックミラー 11 a を透過し、走査光学系 5 に入射する。ダイクロイックミラー 11 a は蛍光検出光学系 11 を構成する光学素子の一つで、近赤外域の波長の光を透過しそれよりも短い波長の光、すなわち蛍光を反射する特性を有している。

【0027】走査光学系 5 はテレビのラスター走査のようにレーザ光束を 2 次元走査するために、ガルバノメータスキャナやポリゴンスキャナのような図示しない光偏光素子を 2 つ組み合わせればよいが、1 つの光偏光素子で 2 次元走査することもできるので少なくとも 1 つ光偏光素子を備えていれば良い。なお、走査光学系 5 を使用しない場合、代わりの走査手段として、標本 9 を保持する図示しないステージを 2 次元走査することでも走査光学系 5 と同様の機能を達成することができる。

【0028】走査光学系 5 を出射したレーザ光束は瞳投影レンズ 6 によって、対物レンズ 8 の像位置 I' に集光する。この時、瞳投影レンズ 7 から出射したレーザ光束はテレセントリックになっていることが低コヒーレンス干渉観察に関しては望ましい。それは、瞳の伝搬を波面で考えた時に、平面波として射出することが干渉観察には重要だからである。このためには、結像レンズ 7 の対物レンズ 8 側の焦点位置が対物レンズ 8 の瞳位置に一致している必要があるが、それ程厳密なものではなく、士 5 mm 程度の誤差であれば十分許容できる範囲内である。

【0029】像位置 I' は結像レンズ 7 及び対物レンズ

8 によって標本 9 上に縮小投影されるため、標本 9 では微小なレーザのスポットによる 2 次元走査の照明が行なわれる。なお、瞳投影レンズ 6 と結像レンズ 7 によって、対物レンズ 8 の瞳位置と光偏向素子とは共役な関係になっている。そして、レーザが照射された標本 9 からは、標本内で反射する反射光と、標本を透過する透過光が生じるほかに、標本が蛍光色素で染色されている場合は蛍光が生じる。

【0030】このうち、透過光と蛍光の一部は透過光検出光学系 10 に入射する。透過光検出光学系 10 はコンデンサレンズ 10 a、蛍光カットフィルタ 10 b、光検出器 10 c で構成されている。標本 9 からの透過光及び蛍光はコンデンサレンズ 10 a によってコリメートされ、蛍光カットフィルタ 10 b に入射するが、蛍光カットフィルタ 10 b はレーザ光源と同じ波長である透過光を透過し、透過光よりも短い波長の蛍光を反射あるいは吸収する特性を有しているため、透過光のみが 10 c に達する。光検出器 10 c では透過光の光強度に応じて電気信号が発生し、その電気信号は画像処理装置 12 へ送られる。

【0031】一方、反射光と蛍光の一部は、再び対物レンズ 8 に入射し、結像レンズ 7、瞳投影レンズ 6、走査光学系 5 を通過してダイクロイックミラー 11 a に達する。ここで、ダイクロイックミラー 11 a は蛍光検出光学系 11 に蛍光を導くために、レーザ光源と同じ波長である反射光を透過し、反射光よりも短い波長の蛍光を反射する特性を有している。そのため、蛍光のみがダイクロイックミラー 11 a で反射され、集光レンズ 11 b によって光検出器 11 c に集められる。光検出器 11 c では蛍光の光強度に応じて電気信号が発生し、その電気信号は画像処理装置 12 へ送られる。なお、集光レンズ 11 b の集光位置にピンホール 11 d を移動可能にしておき、走査光学系 5 を挿脱することによって共焦点光学系か非共焦点光学系を選択的に形成することもできる。

【0032】ダイクロイックミラー 11 a を透過した反射光は、干渉光学系 3 に入射しビームスプリッタ 3 a で反射され、可動ミラー 3 b で反射された参照光と同軸に合成される。この時、参照光の光路長と反射光の光路長が合うように可動ミラー 3 b は光軸方向に移動を行うため、合成された参照光と反射光とで干渉が起き、この干渉光によって生じた干渉信号は干渉信号検出光学系 4 で検出される。干渉光学系 3 及び干渉信号検出光学系 4 で構成された低コヒーレンス干渉装置では、分解能を決めるパルスレーザのコヒーレンス長 L_c は、レーザ発振の中心波長 λ_0 とその半値全幅 $\Delta \lambda$ により決まり、以下の式より計算される。

$$L_c = (\lambda_0) 2 / \Delta \lambda$$

例えば、 $\lambda_0 = 850 \text{ nm}$ 、 $\Delta \lambda = 30 \text{ nm}$ とすると L_c は $25 \mu\text{m}$ となり、このようなパルスレーザを用いれば、光軸方向の分解能が $25 \mu\text{m}$ 以下、実際にコントラスト良

く観察されるのはその $1/10$ 程度であるため、実質分解能 $2.5 \mu\text{m}$ 程度の干渉像が得られることになる。

【0033】干渉信号検出光学系 4 は、集光レンズ 4 a、ピンホール 4 b、光検出器 4 c で構成されており、ビームスプリッタ 3 a で合成された干渉光は集光レンズ 4 a で集光されるが、集光位置にはピンホール 4 b が配置されており、ピンホール 4 b を通過して光検出器 4 c に入射する。なお、干渉信号検出光学系は共焦点光学系となっているため、低コヒーレンス干渉観察の光軸方向及び面内分解能をより向上させ、且つ高コントラストの観察像を得ることができる。光検出器 4 c では干渉光の光強度に応じて電気信号が発生し、その電気信号は画像処理装置 12 へ送られる。

【0034】画像処理装置 12 へ各光検出器から送られた電気信号は、走査光学系 5 の走査に同期して標本 9 の画像を形成し画像表示装置 13 に表示する。なお、画像表示装置に表示する画像は状況に応じて同時に表示することや、それぞれを切替えて表示することができる。

【0035】以上のように本実施の形態では、蛍光観察と低コヒーレンス干渉観察が可能な光学系を有しているため、通常の 1 光子も含む多光子励起による蛍光観察と低コヒーレンス干渉観察を行うことができる。また、走査光学系が光束偏向手段と瞳投影レンズから構成されており、該瞳投影レンズからの射出ビームがほぼテレンントリックになっているため、瞳の伝搬を波面で考えた時に、ほぼ平面波として射出することから、干渉光学系に適した光学系を構成している。

【0036】なお、本発明の実施の形態では、ビームスプリッタ 3 a で反射したレーザ光を低コヒーレンス干渉光学装置に用い、透過したレーザ光をレーザ走査型顕微鏡に用いているが、逆にビームスプリッタ 3 a で反射したレーザ光をレーザ走査型顕微鏡に用い、透過したレーザ光を低コヒーレンス干渉光学装置に用いても良い。

【0037】

【第1実施例】第1実施例を図2に示す。本実施例は高分解能の低コヒーレンス干渉観察と、2光子励起蛍光観察を同時にを行うことができる光学装置である。第1図と同じ構成要素については同じ番号を付し、その詳細な説明は省略する。また、画像処理装置及び画像表示装置は省略している。

【0038】本実施例では2光子励起に適したパルスレーザ光源として、近赤外域の波長のサブピコ秒のコヒーレント光パルスを発するパルスレーザ光源1を用いているが、具体的には直線偏光で波長が 850 nm 、 $\Delta \lambda$ (波長幅) = 50 nm のレーザ光束を射出する。前述のように、コヒーレンス干渉観察を高分解能で行う為には、レーザの波長幅が大きく、コヒーレンス長が短い方が良いが、波長幅が大きいと、光学系通過に伴うパルス幅の拡がりが非常に大きく、標本面での単位時間当たりの光子数が少くなり、多光子励起が起こらなくなってしまう

う。そのため、本実施例では多光子励起が起こるようなパルス幅が標本上で得られるように、パルス幅調整光学系として、プリズムペアからなるプレチャーブコンペニセーション光学系 14 を備えている。

【0039】本実施例ではプレチャーブコンペニセーション光学系 14 を構成するプリズムに、頂角が小さいプリズムやアップ数の小さいガラス材料で作られたプリズムを使用している。このようなプリズムを用いると、わずかなプリズムの移動でより大きなパルス幅の調整が行えるため、プレチャーブコンペニセーション光学系の大 10 型化を防ぐことができる。なお、プリズムの頂角は 45 ° 以下、ガラス材料のアップ数は 50 以下にするのがより望ましい。

【0040】パルスレーザ光源 1 から出射したレーザ光束は、プリズムペアからなるプレチャーブコンペニセーション光学系 14 に入射する。ここで、プレチャーブコンペニセーションが行われ、レーザ光束は多光子励起が可能なパルス幅になるように調整が行われる。プレチャーブコンペニセーション光学系 14 を出た光束は、コリメート光学系 2 で所望の大きさにコリメートされ、分割比 1 : 1 のビームスプリッタ 3 a に入射する。ビームスプリッタ 3 a で反射されたレーザ光束すなわち参照光は、光量調整機構である回転式の透過率可変 ND フィルタ 15 を介して参照ミラー 3 b で反射され、光路を逆進しビームスプリッタ 3 a を透過する。回転式の透過率可変 ND フィルタ 15 は、例えば円盤状のガラス基板上に、その円周方向に透過率が段階的に変化する薄膜を蒸着したもので、後述する標本からの反射光と参照光の光量をほぼ同じ強度にして、最適な干渉縞のコントラストを得るために用いられる。

【0041】一方、ビームスプリッタ 3 a を透過したレーザ光束は走査光学系 5 、瞳投影レンズ 6 、結像レンズ 7 、ダイクロイックミラー 11 a を通過し、対物レンズ 8 で集光され標本 9 を微小なレーザのスポットで走査する。標本 9 からは、レーザ光で励起されて標本 9 から発するレーザ光よりも短い波長の蛍光と、標本 9 で反射されるレーザ光と同じ波長の反射光が生じ、入射した光路を逆に戻っていく。本実施例ではパルスレーザ光源 1 の波長が 850 nm で、2 光子励起される蛍光の波長を 500 ~ 600 nm 程度と想定している。そのため、ダイクロイックミラー 11 a は図 3 に示すように、450 nm ~ 650 nm の波長の光を反射させ、700 nm 以上の波長の光を透過させるような分光特性を有している。

【0042】標本 9 からの光のうち、ダイクロイックミラー 11 a では蛍光のみが反射され、集光レンズ 11 b で集光された後、光検出器 11 c に達し蛍光の検出が行われる。なお、ダイクロイックミラー 11 a は蛍光のみを反射するようになっているが、実際にはレーザ光が多少反射されることもあるため、ダイクロイックミラー 11 a と蛍光検出光学系 11 c の間にレーザカットフィル

タ 16 を設け、レーザ光が光検出器 11 c に達するのを防いでいる。

【0043】本実施例では、蛍光を走査光学系 5 よりも標本側で検出しているので、光検出器 11 c の位置では、走査に同期して集光レンズ 11 b による蛍光の集光位置が移動する。そのため、集光位置にピンホールを配置したいわゆる共焦点光学系を構成することは難しいが、2 光子励起法によって標本を励起すること自体が共焦点効果と同様の効果を有するため、蛍光検出光学 11 を本実施例のように配置しても共焦点効果と同様な効果を得ることができる。

【0044】標本 9 で反射された光はダイクロイックミラー 11 a を通過後、蛍光カットフィルタ 17 に入射する。蛍光カットフィルタ 17 ではダイクロイックミラー 11 a を透過したわずかな蛍光が除去され、反射光のみが透過する。反射光は光路をさらに逆に戻り、ビームスプリッタ 3 a に達する。そして、反射光は上記ビームスプリッタ 3 a で反射されて、参照光と同軸に合成される。ここで、反射光の光路長と参照光の光路長を合わせるよう可動ミラー 3 b の位置が調整され干渉が生じる。干渉光は集光レンズ 4 a により集光し、集光位置に置かれた微小な共焦点ピンホール 4 b を透過した光のみが光検出器 4 c で検出される。

【0045】本実施例では、パルスレーザ光源 1 の Δ 入が 50 nm もあるため、光学系を通過することによるパルス幅の拡がりが非常に大きくなる。そのため、このままでではレーザ光束を標本に照射した時に 2 光子励起を発生させることが難しくなる。そこで本実施例では、プレチャーブコンペニセーション光学系 14 を設け、光学系を通過することによって生じるパルス幅の拡がりを予めブルチャーブコンペニセーション光学系 14 で相殺することにより、標本 9 でのパルス幅の拡がりを抑えるようにしている。また、このレーザ 1 のコヒーレンス長 L_c は約 14.5 μm であり、それだけでも十分高分解能な低コヒーレンス干渉観察が可能となる。

【0046】また、本実施例ではビームスプリッタと反射ミラーとの間に光量調整機構として透過率可変 ND フィルタ 15 を有しているため、参照光の光量と標本から戻ってくる反射光の光量のバランスを取ることができ、40 より高コントラストな干渉像を得ることができる。また、蛍光検出光路にはレーザカットフィルタが具備され、干渉像検出光路には蛍光カットフィルタが具備されていることから、蛍光検出光路にレーザが入り込んだり干渉像検出光路に蛍光が混入することがなく、共に高コントラストな像が得られる。

【0047】

【第2実施例】第2実施例を図 4 に示す。本実施例は第 1 実施例の光学装置において、装置のコンパクト化を行った構成である。本実施例では、干渉光学系において、ビームスプリッタ 3 a で反射された参照光の光路の構成

のみが第1実施例と異なるため、その部分のみを図示している。なお、本実施例においても第1図と同じ構成要素については同じ番号を付し、その詳細な説明は省略する。

【0048】ビームスプリッタ3aで反射されたレーザ光束は、2枚の直線偏光板18、19からなる光量調整機構20に入射する。2枚の直線偏光板のうちビームスプリッタ3a側に配置された直線偏光板18は、その偏光方向がレーザ光束の偏光方向に合わせてある。また、一方の直線偏光板19は、図示しない回転機構によって光軸を回転軸として回転するようになっている。したがって、直線偏光板18の偏光方向と直線偏光板19の偏光方向が互いの偏光方向が一致する(パラニコル)時は透過光量が最大となり、互いの偏光方向が直交する(クロスニコル)時は透過光量がほぼゼロになる。パラニコル、クロスニコル以外の状態では、回転する直線偏光板19の偏光方向に応じて、透過する光量が変化する。このように、光量調整機構20では任意の透過率を得ることができ、干渉像のコントラストが最大となるような参考光の光量調整が可能になる。

【0049】光量調整機構20で光量調整が施された参考光は、ファイバカップリング光学系21によりシングルモードファイバ22の入射端面22aに集光される。シングルモードファイバ22は入射した時のレーザ光の特性を保ちながらシングルモードファイバ22の出射端面22bよりレーザ光を出射する。出射した参考光はコリメート光学系23で平行光にされた後、参考ミラー3bに入射する。

【0050】本実施例では、波長幅をもったレーザ光束をファイバカップリング光学系21およびコリメート光学系23によって集光およびコリメートすることから、これらの光学系は色収差と球面収差が良好に補正されている必要がある。そのため、本実施例では、ファイバカップリング光学系21およびコリメート光学系23は、少なくとも1枚のダブレットを含む光学系で構成することがより望ましい。

【0051】このように本実施例では、ビームスプリッタ3aで反射された光束を反射し光路を逆進させる、光軸方向の位置が可変のミラーを有するいわゆる参考光路に、シングルモードファイバ用いているため、光路分割素子と可動反射光学素子の間の光路を長くしても、シングルモードファイバをリング状に束ねて光路分割素子と可動反射光学素子の間の距離を短くすることができ、干渉光学装置をコンパクトにすることができる。

【0052】また、光路分割素子と可動反射光学素子の間に光路折り曲げミラーを配置し、光路を数回曲げて干渉光学装置をコンパクトにするような方法に比べると、高精度な面精度や傾き調整精度を必要とする光路折り曲げミラーが不要になる。更に、ファイバカップリング光学系21及びコリメート光学系23にはダブレットレン

ズを用いて球面収差と色収差を良好に補正しているため、参照光の波面をシングルモードファイバを使用しない場合とだいたい同じ波面にすることができる。

【0053】なお、本実施例の構成では、ファイバカップリング光学系21からコリメート光学系23まで光学系の光路長OP(r)と、ビームスプリッタ3aから標本面9までの光路長OP(o)が以下の条件(2)を満足するが望ましい。

$$(2) 0.65 \leq OP(r) / OP(o) \leq 0.95$$

ここで、下限の0.65を下回る時は、参照光路と観察光路の光路長を合わせるための反射ミラーの移動量が大きくなり、調整がし難くなり、逆に上限の0.95を上回る時は、コリメート光学系と反射ミラーの距離が近くになりすぎ、やはり調整し難くなる。なお、この値が1を越えた場合は参照光路と観察光路の光路長を合わせることが不可能になることは言うまでもない。

【0054】更に望ましくは、以下の条件式を満足する方がより調整が容易になって良い。(2') 0.7 \leq OP(r) / OP(o) \leq 0.9 なお、本実施例では、OP(r) / OP(o)の値は0.85程度となっており、これにより参考光路と観察光路の光路長を反射ミラーの光軸方向の移動だけで高精度に合わせることが可能になっている。

【0055】

【第3実施例】第3実施例を図5に示す。この実施例は高分解能の低コヒーレンス干渉観察と、励起光が近赤外の波長域である通常の1光子励起蛍光観察(いわゆるIR蛍光観察)を同時に行うことができる光学装置である。第1図と同じ構成要素については同じ番号を付し、その詳細な説明は省略する。また、画像処理装置及び画像表示装置は省略している。

【0056】本実施例においても第1実施例と同様にレーザ光源として、近赤外域の波長のサブピコ秒のコヒーレント光パルスを発するパルスレーザ光源1を使用しており、具体的には直線偏光で波長が710nm、 $\Delta\lambda$ (波長幅) = 30nmのレーザ光束を出射する。

【0057】パルスレーザ光源1からの光束はコリメート光学系2で所望の大きさにコリメートされる。本実施例では、第1実施例とは異なり多光子励起による蛍光観察は行わないため、光学系によって生じるパルスレーザ光源1のパルス幅の拡がりは問題にならない。よって、パルスレーザ光源1とコリメート光学系2の間に、プレチャーブコンペナセーション光学系がない。コリメート光学系2で所望の大きさにコリメートされたレーザ光束は、分割比1:1のビームスプリッタ3aに入射する。ビームスプリッタ3aで反射されたレーザ光束、すなわち参考光は光量調整機構27に入射する。

【0058】本実施例の光量調整機構27は、液晶25を2枚の直線偏光板24、25で挟んで構成されている。ビームスプリッタ3a側の直線偏光板24は、その

偏光方向がレーザ1の偏光方向に一致するように配置されており、もう一方の直線偏光板25は、その偏光方向が直線偏光板24の偏光方向と直交する(クロスニコル)状態になるように配置されている。液晶26の両面には図示しない透明電極をが設けられており、この透明電極を介して液晶26に電圧が印加されるようになっている。このような構成において液晶26に電圧を引加すると、液晶26の結晶分子の配列方向が変わり液晶を通過する光の偏光状態が変わる。したがって、液晶26に印加する電圧を調整することによって、光量調整機構27では任意の透過率を得ることができ、干渉像のコントラストが最大となるような参照光の光量調整が可能になる。

【0059】一方、ビームスプリッタ3aを透過したレーザ光束はダイクロイックミラー11a、走査光学系5、瞳投影レンズ6、結像レンズ7を通過し、対物レンズ8で集光され標本9を微小なレーザのスポットで走査する。標本9からは、レーザの光で励起されて標本9から発するレーザ光よりも長い波長の蛍光と、標本9で反射されるレーザ光と同じ波長の反射光が生じ、入射した光路を逆に戻っていく。本実施例ではパルスレーザ光源1の波長が710nmで、励起される蛍光の波長を760nm~800nmと想定している。そのため、ダイクロイックミラー11aは図6に示すように、750nm以上の波長の光を反射させ、710nm以下の波長の光を透過させるような分光特性を有している。

【0060】ダイクロイックミラー11aでは蛍光のみが反射されレーザ光は透過するが、念のためレーザカットフィルタ22を配置してレーザ光の除去が行われる。レーザカットフィルタ22を透過した蛍光は集光レンズ11bで集光された後、光検出器11cに達し蛍光の検出が行われる。本実施例では、第1実施例のように2光子励起を行わないため、共焦点光学系を形成するためには、蛍光はピンホールを通して検出しなければならない。そのため、蛍光検出光学系11は走査光学系5よりもパルスレーザ光源1側に配置している。このような配置にすると、走査にかかわらず集光レンズ11bによる蛍光の集光位置は常に一点に止まっているため、集光位置にピンホールを配置して、共焦点光学系を構成することができる。

【0061】標本9で反射された光はダイクロイックミラー11aを通過後、蛍光カットフィルタ23に入射し反射光のみが透過する。反射光は上記ビームスプリッタ3aで反射されて、参照光と同軸に合成される。ここで、反射光の光路長と参照光の光路長を合わせるように可動ミラー3bの位置が調整され干渉が生じる。干渉光は集光レンズ4aにより集光し、集光位置に置かれた微小な共焦点ピンホール4bを透過した光のみが光検出器4cで検出される。

【0062】本実施例では、 $\Delta\lambda$ が大きく光学系通過に

よるパルス幅の拡がりは大きいが、1光子励起を想定しているため、パルス幅の拡がりは問題にならない。また、このレーザ1のコヒーレンス長Lcは約16.8μmであり、それだけでも十分高分解能な低コヒーレンス干渉観察が可能となる。

【0063】

【第4実施例】第4実施例を第7図に示す。本実施例は高分解能の低コヒーレンス干渉観察と、2光子励起蛍光観察、及び近赤外光による透過の微分干渉観察を同時に行うことができる光学装置である。第1図と同じ構成要素について同じ番号を付し、その詳細な説明は省略する。また、画像処理装置及び画像表示装置は省略している。

【0064】本実施例では、標本9を透過するレーザ光で標本の像を画像化するために、微分干渉光学系を用いている。微分干渉光学系は、対物レンズ8の像位置I'1と対物レンズ8の間に配置された第1のノマルスキーブリズム28、コンデンサレンズ10aと透過光検出光学系10cの間に配置した第2のノマルスキーブリズム19及び検光子(アナライザ)30で構成される。第1のノマルスキーブリズム28の位置は、原理的には対物レンズ像位置と対物レンズの間であればどこでも良いが、実際の構成やノマルスキーブリズムの形状等を考慮すると、対物レンズ胴付から50mm以内に配置されていることが望ましい。

【0065】パルスレーザ光源1からのレーザ光束は直線偏光であるため、第1のノマルスキーブリズム28に入射するとわずかに分離した2つの偏光光束になる。この2つの偏光光束は標本9を通過しコンデンサレンズ10aで集光され第2のノマルスキーブリズム19に入射し再び一つの光束になる。そして検光子(アナライザ)30を通過する時に偏光干渉が生じ、いわゆる微分干渉信号として光検出器10cで検出される。検出された信号は、図示しない画像表示装置上に画像表示される。また、本実施例では、蛍光カットフィルタ10bを備えることによって透過の微分干渉像に蛍光が混入することを防いでおり、微分干渉像のコントラストが良くなる。

【0066】本実施例のように微分干渉光学系において光源の波長を赤外にした場合、いわゆる近赤外の微分干渉光学系(IR-DIC)は、あまり厚くない標本の観察には非常に有効である。このように本実施例では、いわゆる透過の微分干渉信号を検出する光学系を備えているため、通常の1光子も含む多光子励起による蛍光観察と、低コヒーレンス干渉観察及び微分干渉観察が同時、若しくは切り替えで行うことができる。

【0067】また、第1及び第2のノマルスキーブリズム28、29が光路から挿脱可能に構成されていることが望ましい。このような構成により透過の微分干渉観察を行わない場合に余計な光学素子を光路から外せるた

め、蛍光観察や低コヒーレンス干渉観察においてコントラストの低下を防ぐことができる。

【0068】また、第1のノマルスキーブリズム28と対物レンズによる標本面上でのシェア量 δ が以下の条件

(3)を満足するようにすることで、蛍光観察での分解能を低下させることなく十分な微分干渉効果のある微分干渉観察が行える。すなわち、 $0.46 \times \lambda / NA$ を下回る時は、強度の足し算で考えた場合にふたつのスポットが分離されず、ひとつのスポットとなるため、蛍光観察の解像力が殆ど低下しない。更に、多光子励起の場合にはふたつのスポットが重畳した部分でだけ多光子励起による蛍光発光が起こるため、解像力の向上が期待できる。また、透過の微分干渉観察を同時に行う場合でも、蛍光観察の分解能を殆ど低下させることなく、ビデオエンハンス等の画像処理を用いることにより、十分な微分干渉効果を得ることができる。

(3) $0.15 \times \lambda / NA \leq \delta \leq 0.46 \times \lambda / NA$
ここで、 λ は使用波長、NAは対物レンズの開口数である。条件式(3)において、下限の $0.15 \times \lambda / NA$ を下回る時は、ビデオエンハンス等の画像処理を用いても微分干渉効果が得られず、逆に上限の $0.46 \times \lambda / NA$ を上回る時は、ノマルスキーブリズムでシェアされ、対物レンズで形成されたふたつのスポットが強度の足し算で考えた場合にふたつのスポットとなってしまい、蛍光観察の解像力が低下してしまう。

【0069】なお、上記何れの実施例も、これらの構成に限定されるものではなく様々な組み合わせで構成できることは言うまでもない。

【0070】

【発明の効果】本発明によれば、1光子も含む多光子励起レーザ走査顕微鏡と低コヒーレンス干渉装置やIR-DICなどの干渉観察装置を組み合わせることにより、例えば組織細胞内部の細胞の輪郭を低コヒーレンス干渉観察や微分干渉観察しながら、その中で蛍光色素を付けられた染色体等の特定の構造に関する蛍光観察や、特定のイオンからの信号検出等ができるレーザ走査型顕微鏡を構成することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施の形態のレーザ走査型顕微鏡を示す図

【図2】本発明の第1実施例のレーザ走査型顕微鏡を示す図

【図3】本発明の第1実施例のレーザ走査型顕微鏡に用いられるダイクロイックミラーの分光反射率を示す図

【図4】本発明の第2実施例のレーザ走査型顕微鏡における干渉光学系を示す図

【図5】本発明の第3実施例のレーザ走査型顕微鏡を示す図

【図6】本発明の第3実施例のレーザ走査型顕微鏡に用いられるダイクロイックミラーの分光反射率を示す図

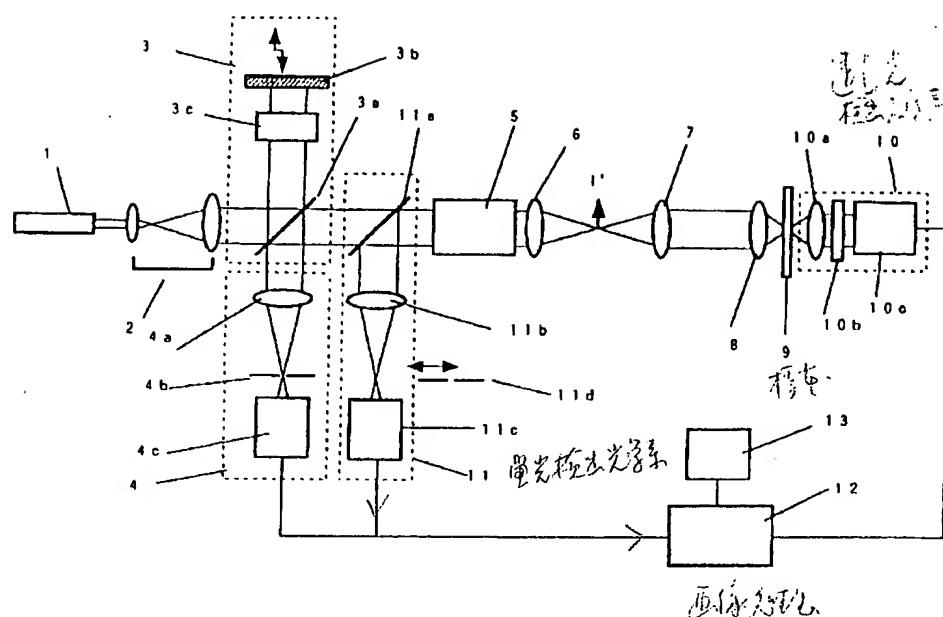
【図7】本発明の第4実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図

【図8】プレチャーブコンペニセーション光学系を示す図

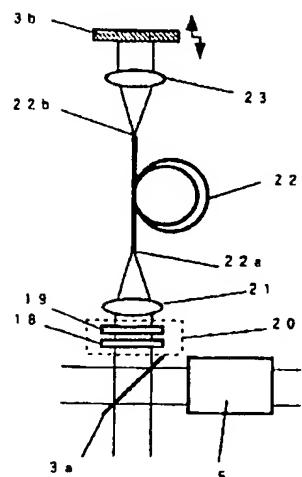
【符号の説明】

- 1 パルスレーザ光源
- 2, 23 コリメート光学系
- 3 干渉光学系
- 3a ビームスプリッタ
- 10 3b 可動ミラー
- 3c, 20, 27 光量調整機構
- 4 干渉信号検出光学系
- 4a, 11b 集光レンズ
- 4b, 11d ピンホール
- 4c, 10c, 11c 光検出器
- 5 走査光学系
- 6 瞳投影レンズ
- 7 結像レンズ
- 8 対物レンズ
- 20 9 標本
- 10 透過光検出光学系
- 10a コンデンサーレンズ
- 10b 蛍光カットフィルタ
- 11 蛍光検出光学系
- 11a ダイクロイックミラー
- 12 画像処理装置
- 13 画像表示装置
- 14 プレチャーブコンペニセーション光学系
- 15 透過率可変NDフィルタ
- 30 16 レーザカットフィルタ
- 17 蛍光カットフィルタ
- 18, 19, 24, 25 直線偏光板
- 21 ファイバカップリング光学系
- 22 シングルモードファイバ
- 22a 入射端面
- 22b 出射端面
- 26 液晶
- 28 第1のノマルスキーブリズム
- 29 第2のノマルスキーブリズム
- 40 30 検光子(アナライザ)
- 31 第1のプリズム
- 31a 第1のプリズムの入射面
- 32 第2のプリズム
- 32a 第2のプリズムの出射面
- 33 第3のプリズム
- 34 第4のプリズム
- 35 保持台
- 36 駆動装置
- 36a 駆動部

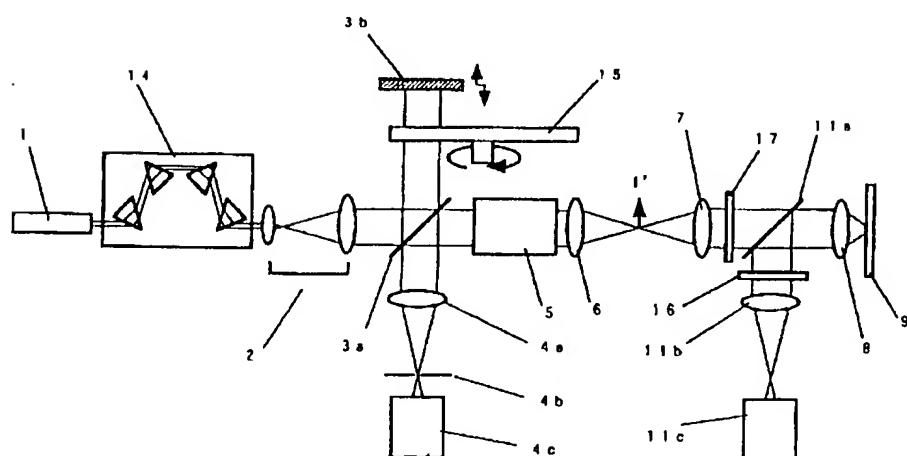
[図 1]



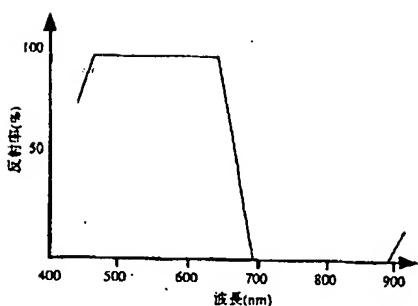
[図4]



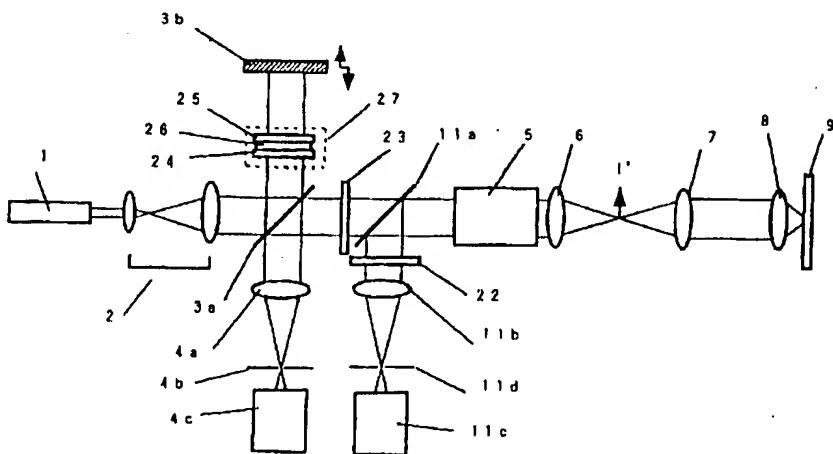
【図2】



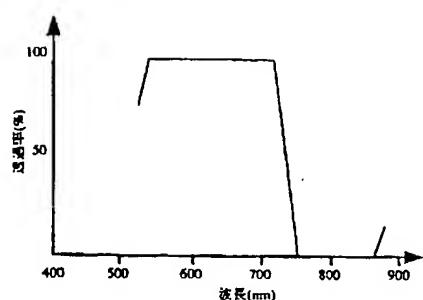
[図3]



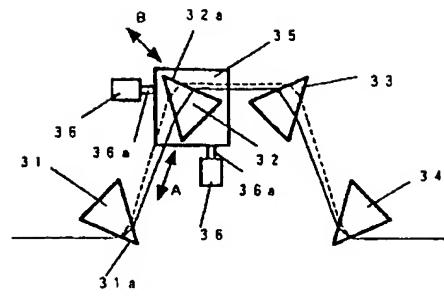
【図5】



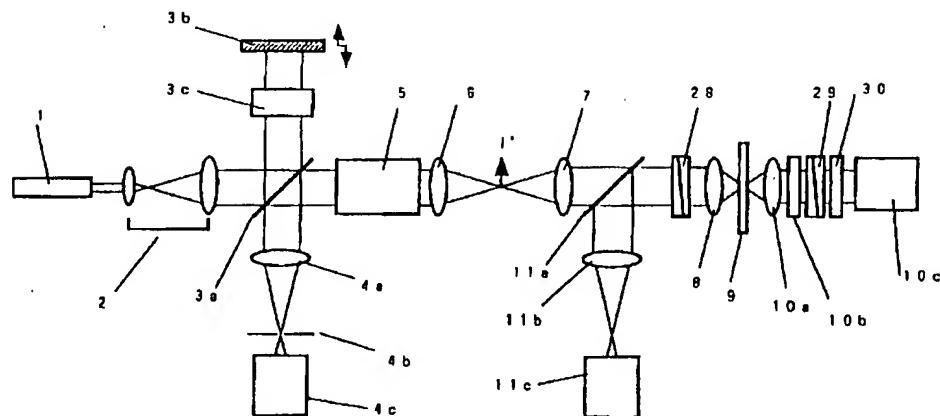
【図 6】



【図 8】



【図 7】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.